

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
6. Mai 2005 (06.05.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/040376 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/10

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2004/002386

(22) Internationales Anmeldedatum:
22. Oktober 2004 (22.10.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 50 474.5 23. Oktober 2003 (23.10.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): UNIVERSITÄT LEIPZIG [DE/DE]; Ritterstrasse
26, 04109 Leipzig (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GREINER-STÖF-
FELE, Thomas [DE/DE]; Reichpietschstrasse 33, 04317
Leipzig (DE). STRUHALLA, Marc [DE/DE]; Brock-
hausstrasse 10, 04229 Leipzig (DE).

(74) Anwalt: UHLEMANN, Henry; Kailuweit & Uhlemann,
Bamberger Str. 49, 01187 Dresden (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FROM THE SELECTION OF BIOMOLECULES FROM BIOMOLECULE VARIANT LIBRARIES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR SELEKTION VON BIOMOLEKÜLEN AUS VARIANTEN-BIBLIOTHEKEN VON BI-
MOLEKÜLEN

(57) Abstract: The invention relates to a method from the selection of biomolecules from variant libraries, in particular of bio-
catalytically active biomolecules, comprising the steps: a) production of a variant library, b) division of the variant library into a
number of compartments, each of which is smaller than the total number of variants in the variant library by a factor of at least 10,
c) production and testing of the biomolecules in the individual compartments for a particular property, for example, a bio-catalytic
activity, d) selection of at least one compartment in which there are biomolecules fulfilling the desired properties, e) division of the
partial library contained in the selected compartment into further compartments and f) n-fold repetition of the steps c) to e) until
each compartment has only one variant of the gene sequence coding for the biomolecule. In contrast to established methods which
comprise mutagenesis and selection steps, said method starts with a large library in which the desired variants are contained from
the outset.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Selektion von Biomolekülen aus Varianten-Bibliotheken, insbe-
sondere von biokatalytisch aktiven Biomolekülen, mit den Schritten: a) Herstellung einer Varianten-Bibliothek, b) Aufteilung der
Varianten-Bibliothek in eine Anzahl von Kompartimenten, die mindestens um einen Faktor kleiner ist, als die Anzahl der in der Vari-
anten-Bibliothek enthaltenen Varianten, c) Produktion und Test der in den einzelnen Kompartimenten enthaltenen Biomoleküle auf
eine bestimmte Eigenschaft, z. B. eine biokatalytische Aktivität, d) Auswahl mindestens eines Kompartiments, in dem Biomoleküle
enthalten sind, welche die gewünschte Eigenschaft erfüllen, e) Aufteilung der in dem ausgewählten Kompartiment enthaltenen Teil-
bibliothek in weitere Kompartimente und f) n-faches Wiederholen der Schritte c) bis e) bis in jedem Kompartiment nur noch maximal
eine Variante der für das Biomolekül codierenden Gensequenz enthalten ist. Gegenüber etablierten Verfahren, die Mutagenese- und
Selektionsschritte enthalten, wird im erfindungsgemässen Verfahren von einer grossen Bibliothek ausgegangen, die von vornherein
die gewünschte Variante enthält.

WO 2005/040376 A2